



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **69656** (13) **U**  
(51) МПК**A61K 35/74** (2006.01)**A23C 9/12** (2006.01)**C12N 1/20** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>u 2011 12096</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Димент Галина Семенівна (UA),</b> <b>Янковський Дмитро Станіславович (UA),</b> <b>Широбоков Володимир Павлович (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>14.10.2011</b>	
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.05.2012</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>Димент Галина Семенівна,</b> вул. Лісковська, 18 а, кв. 172, м. Київ-097, 02097 (UA), <b>Янковський Дмитро Станіславович,</b> вул. Чумака, 6, кв. 4, м. Київ-65, 03065 (UA), <b>Широбоков Володимир Павлович,</b> вул. Терещенківська, 13, кв. 30, м. Київ-004, 01004 (UA)
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.05.2012, Бюл.№ 9</b>	

**(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПРОБІОТИКА "СИМБІТЕР ФОРТЕ-М"****(57) Реферат:**

Спосіб одержання пробіотики передбачає приготування живильного середовища, введення до його складу стимулятора росту цукролітичних бактерій, культивування клітин полівидового мультисимбіозу, який містить біфідобактерії видів *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, лактобацили видів *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. helveticus*, молочнокислі стрептококи видів *Lactococcus lactis* і *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, пропіоновокислі бактерії видів *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* і *P. acidipropionici*, відділення біомаси центрифугуванням і введення до складу препарату гелю бентоніту. Гель бентоніту вводять до складу живильного середовища перед стерилізацією в кількості 50-60 % від його загального об'єму. Гель бентоніту містить 4,0-4,5 % сухих речовин, а як додатковий стимулятор росту до складу середовища вводять зародки пшениці у вигляді 10-12 %-ної водної суспензії у кількості 30-50 % від загального об'єму середовища.

UA 69656 U



Корисна модель належить до біотехнології й може бути використана у виробництві пробіотиків - препаратів, біологічно активних добавок або спеціальних харчових продуктів, що містять живі клітини корисних мікроорганізмів, які здатні благотворно впливати на здоров'я людини шляхом оздоровлення його симбіотичної мікрофлори.

5 У зв'язку з неухильним збільшенням кількості дітей та дорослих, що страждають мікроекологічними розладами (дисбіоз, дисбактеріоз) і асоційованими з ними захворюваннями, поповнення арсеналу засобів пробіотичної терапії новими ефективними препаратами є дуже важливим і актуальним завданням.

10 Один із напрямків в галузі підвищення ефективності пробіотиків базується на конструюванні стійких полівидових симбіозів фізіологічних бактерій. Успішне поєднання в одному препараті корисних властивостей різних видів пробіотичних бактерій, об'єднаних за допомогою спеціальних методів у багатофункціональні мультисимбіози, дозволяє одержати пробіотик із розширеним спектром біологічних активностей. Серія мультипробіотиків з доведеною лікувально-профілактичною ефективністю розроблена в Україні.

15 Відомий спосіб одержання бактеріального концентрату "Симбітер", що передбачає приготування живильного середовища на молочній основі, ферментованій сполученням штамів *Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4741, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ВКПМ В-4541 і *Acetobacter aceti* ВКПМ В-5495, приготування й внесення в живильне середовище посівного матеріалу, що містить біфідобактерії видів *Bifidobacterium longum* і *Bifidobacterium bifidum*, оцтовокислі бактерії видів *Acetobacter aceti* і *Acetobacter pasteurianus*, пропіоновокислі бактерії видів *Propionibacterium freudenreichii* і *Propionibacterium acidipropionici*, а також молочнокислі бактерії родів *Lactobacillus* і *Lactococcus*, при співвідношенні симбіозу молочнокислих і оцтовокислих бактерій із симбіозом біфідобактерій, пропіоновокислих і оцтовокислих бактерій, рівному 1:3 (Патент України № 10367, С12N 1/20, А23С 9/12, 1996).

25 Бактеріальний концентрат, одержаний відомим способом, характеризується високим вмістом життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій і антагоністичною активністю щодо широкого спектра патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Однак при одержанні мультипробіотика використовується обмежена кількість видів біфідобактерій і лактобацил, що не дає можливості підвищення активності концентрату за рахунок пробіотичних властивостей додаткових таксонів цих фізіологічно цінних бактерій.

30 Відомий також спосіб одержання пробіотика "Симбітер-2", що передбачає спільне культивування в молочному середовищі багатокомпонентної асоціації біфідобактерій, лактобацил, лактококів, стрептококів, пропіоновокислих і оцтовокислих бактерій видів *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. adolescentis*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. gasseri*, *L. brevis*, *Propionibacterium freudenreichii*, *P. acidipropionici* і *Acetobacter aceti*, при цьому попередньо одержаний консорціум молочнокислих стрептококів і лактобацил з'єднують із консорціумом біфідобактерій, пропіоновокислих і оцтовокислих бактерій у співвідношенні 1:4 (Патент України № 28040, А23С 9/12, С12N 1/20, 2000).

40 Пробіотик, який одержують відомим способом, містить 24-штамовий симбіотичний комплекс пробіотичних бактерій, пригнічує ріст широкого кола патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, синтезує вітаміни й екзополісахариди, внаслідок чого проявляє високу пробіотичну активність.

45 Однак пробіотик має недостатню резистентність до природних інгібіторів травного тракту, зокрема, шлункового соку та жовчі, не здатний довго зберігати якісні характеристики (термін зберігання пробіотика - не більше двох місяців при температурі 4-6 °С).

50 Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб одержання пробіотика "Симбітер-форте", що передбачає спільне культивування в середовищі на основі знежиреного молока з додаванням як стимулятора росту гідролізованого молока або гідролізата казеїну полівидового мультисимбіозу цукролітичних бактерій, що містить біфідобактерії видів *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, лактобацили видів *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. helveticus*, молочнокислі стрептококи видів *Lactococcus lactis* і *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, пропіоновокислі бактерії видів *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* і *P. acidipropionici*, з подальшим центрифугуванням для відділення біомаси, яку потім змішують у співвідношенні 1:1-1:2 із протектором-ентеросорбентом, яким є 5-10 %-ний гель бентоніту (патент України № 86542, А61К 35/74, А23С 9/12, С12N 1/20, 2008) - прототип.

55 Спосіб дозволяє отримати ефективний комплексний препарат, що характеризується властивостями мультипробіотика і ентеросорбента. Препарат характеризується високою резистентністю до шлункового соку та жовчі, високими адсорбційними властивостями, у тому

числі відносно ентеровірусів та холестерину. Однак у способі не реалізована можливість більш повного використання стимулюючого і протекторного впливу гелю бентоніту на ріст і життєздатність популяцій цукролітичних бактерій та збільшення за рахунок цього кількості клітинної біомаси, що є про-біотичною основою препарату, а також подовження терміну зберігання пробіотика.

Задачею корисної моделі є створення способу одержання пробіотика "Симбітер форте-М", в якому шляхом введення гелю бентоніту до складу живильного середовища і використання як додаткового стимулятора росту пробіотичних бактерій суспензії зародків пшениці, забезпечується збільшення виходу біомаси і тривалості терміна зберігання рідкого мультитипробіотика.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі одержання пробіотика "Симбітер форте-М", що передбачає приготування живильного середовища, введення до його складу стимулятора росту цукролітичних бактерій, культивування клітин полівидового мультисимбіозу, що містить біфідобактерії видів *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, лактобацили видів *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. helveticus*, молочнокислі стрептококи видів *Lactococcus lactis* і *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, пропіоновокислі бактерії видів *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* і *P. acidipropionici*, відділення біомаси центрифугуванням і введення до складу препарату гелю бентоніту, відповідно до корисної моделі, гель бентоніту вводять до складу живильного середовища перед стерилізацією у кількості 50-60 % від його загального об'єму, при цьому гель бентоніту містить 4,0-4,5 % сухих речовин, а як додатковий стимулятор росту до складу живильного середовища вводять зародки пшениці у вигляді 10-12 %-ної водної суспензії у кількості 30-50 % від загального об'єму середовища.

Пробіотик виготовляють в пероральній формі, а також у вигляді супозиторіїв для ректального або вагінального застосування, або мазі для зовнішнього застосування.

Пропонований спосіб передбачає використання гелю бентоніту на стадії приготування живильного середовища перед його стерилізацією. Як показали результати спеціально проведених досліджень, при культивуванні клітин симбіозу пробіотичних бактерій, який використовують у способі, у живильному середовищі, що містить гель бентоніту у концентрації, яка пропонується, відбувається значна стимуляція росту і активності бактеріальної популяції, збільшення концентрації клітин в кінці культивування, збільшення резистентності симбіотичної культури до жовчі та шлункового соку, збільшення виходу біомаси при центрифугуванні культурального середовища (табл. 1).

Гель, що застосовується у способі, містить 4,0-4,5 % бентоніту. Зниження концентрації бентоніту у гелі менше 4 % призводить до зменшення стійкості гелю, а також - стимулюючої і протекторної дії гелю бентоніту щодо пробіотичної мікрофлори. Збільшення концентрації бентоніту в гелі понад 4,5 % недоцільно, оскільки не сприяє помітному збільшенню захисних властивостей щодо мікрофлори пробіотика, але призводить до зайвого ущільнення консистенції препарату.

4,0-4,5 %-й гель бентоніту вводять у живильне середовище в кількості 50-60 % від загального об'єму середовища. Дана концентрація є найбільш оптимальною. Зміна співвідношення у бік зменшення частки гелю бентоніту призводить до зменшення стимулюючого ефекту на бактеріальні клітини, зниження виходу біомаси, терміну зберігання пробіотика та зниження резистентності до природних інгібіторів травного тракту (жовчі та шлункового соку). Збільшення кількості гелю бентоніту недоцільно, оскільки призводить до зниження концентрації бактеріальних клітин та їх фізіологічно цінних метаболітів у пробіотику (табл. 2).

Пропонований спосіб передбачає введення до складу живильного середовища як додаткового стимулятора росту пробіотичних бактерій водної суспензії зародків пшениці.

Завдяки вмісту в зародках пшениці цінного рослинного білка, вуглеводів, поліненасичених жирних кислот, пептидів, незамінних амінокислот, мінеральних компонентів, вітамінів і антиоксидантів використання суспензії зародків пшениці у складі живильного середовища приводить до збагачення її цінними біологічно активними сполуками. Крім того, як свідчать спеціально проведені дослідження, зародки пшениці є потужним стимулятором росту популяцій цукролітичних анаеробних бактерій. За наявності зародків пшениці помітно підвищується вуглеводферментуюча здатність мультисимбіоза, що виражається у збільшенні концентрації коротколанцюгових жирних кислот, які виконують в організмі людини широкий спектр фізіологічно цінних функцій, а також екзополісахаридів (табл. 3).

Максимальна стимуляція росту мультивидового симбіозу пробіотичних бактерій спостерігається при сумісному використанні у складі живильного середовища гелю бентоніту і

суспензії зародків пшениці в зазначених співвідношеннях. Крім того, використання запропонованого способу приводить до поліпшення умов для концентрування в біомасі не тільки клітин бактеріального мультисимбіозу, а й біологічно активних рослинних сполук за рахунок більш інтенсивного, за наявності гелю бентоніту, їх осадження при центрифугуванні культурального середовища.

Суспензія зародків пшениці з концентрацією сухих речовин 10-12 % вноситься до складу живильного середовища в кількості 30-50 %. Проведені дослідження встановили, що дана концентрація суспензії зародків пшениці є оптимальною. Подальше збільшення концентрації не приводить до помітних змін концентрації клітин і ферментативної активності пробіотичної флори. Зменшення ж концентрації зародків пшениці призводить до зниження виходу біомаси клітин і її біологічної активності (табл. 4).

Спосіб здійснюють таким чином.

Живильне середовище готують у двох варіантах. Як перший варіант живильного середовища використовують суміш молока з гелем бентоніту, до якої вводять як стимулюючу добавку водну суспензію зародків пшениці. Другий варіант живильного середовища не містить молока і є сумішню водної суспензії зародків пшениці і гелю бентоніту. При приготуванні живильного середовища за першим варіантом 40-50 % молока з вмістом сухих речовин 8-10 % змішують з 50-60 % гелю бентоніту з вмістом сухих речовин 4,0-4,5 %. У підготовлену суміш вносять 30-35 % суспензії зародків пшениці з концентрацією сухих речовин 10-12 %. При приготуванні живильного середовища за другим варіантом 40-50 % суспензії зародків пшениці з концентрацією сухих речовин 10-12 % змішують з 50-60 % гелю бентоніту з вмістом сухих речовин 4,0-4,5 %. Підготовлене живильне середовище стерилізують, охолоджують до температури культивування, інокують пробіотичним симбіозом і інкубують при температурі 35-37 °C для накопичення клітинної біомаси, яку відокремлюють від культуральної рідини центрифугуванням.

Для приготування інокуляту використовують мультикомпонентний симбіоз молочнокислих, пропіоновокислих і біфідобактерій.

Для створення симбіозу культури нижче перелічених штамів бактерій вносять в стерильне знежирене молоко з вмістом сухих речовин 8-10 % або стерильну водну суспензію зародків пшениці з вмістом сухих речовин 10-12 % у таких співвідношеннях:

<i>Bifidobacterium bifidum</i> IMB B-7113	6
<i>Bifidobacterium longum</i> IMB B-7150	6
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> IMB B-7148	4
<i>Bifidobacterium infantis</i> IMB B-7147	6
<i>Bifidobacterium breve</i> IMB B-7132	6
<i>Lactobacillus fermentum</i> IMB B-7133	4
<i>Lactobacillus salivarius</i> IMB B-7134	2
<i>Lactobacillus helveticus</i> IMB B-7115	2
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ВКПМ B-5863	1
<i>Lactobacillus casei</i> ВКПМ B-5724	5
<i>Lactobacillus brevis</i> IMB B-7114	4
<i>Lactobacillus plantarum</i> IMB B-7116	3
<i>Lactobacillus gasseri</i> IMB B-7135	3
<i>Lactococcus lactis</i> ВКПМ B-5725	1
<i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> ВКПМ B-5388	2
<i>Propionibacterium freudenreichii</i> ssp. <i>shermanii</i> ВКПМ B-4544	7
<i>P. acidipropionici</i> ВКПМ B-5800	6
<i>Acetobacter aceti</i> ВКПМ B-5495	3.

Інокульоване живильне середовище витримують протягом 15-18 годин при температурі 35-37 °C. При сполученні штамів у зазначених співвідношеннях вони формують стійкий мультикомпонентний симбіоз.

Винахід пояснюється прикладами.

Приклад 1. Спосіб одержання пробіотика "Симбітер форте-М" у вигляді рідкого бактеріального концентрату для орального застосування.

Для приготування інокуляту у 25 л стерильного знежиреного молока з вмістом сухих речовин 10 % вносять 1,25 л культури мультикомпонентного симбіозу молочнокислих, пропіоновокислих і біфідобактерій наступного штамового складу:

Bifidobacterium bifidum IMB B-7113	6
Bifidobacterium longum IMB B-7150	6
Bifidobacterium adolescentis IMB B-7148	4
Bifidobacterium infantis IMB B-7147	6
Bifidobacterium breve IMB B-7132	6
Lactobacillus fermentum IMB B-7133	4
Lactobacillus salivarius IMB B-7134	2
Lactobacillus helveticus IMB B-7115	2
Lactobacillus acidophilus ВКПМ B-5863	1
Lactobacillus casei ВКПМ B-5724	5
Lactobacillus brevis IMB B-7114	4
Lactobacillus plantarum IMB B-7116	3
Lactobacillus gasseri IMB B-7135	3
Lactococcus lactis ВКПМ B-5725	1
Streptococcus salivarius ssp. thermophilus ВКПМ B-5388	2
Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii ВКПМ B-4544	7
P. acidipropionici ВКПМ B-5800	6
Acetobacter aceti ВКПМ B-5495	3.

Інокульоване молоко ферментують протягом 18 годин при температурі 36 °С. Готовий інокулят характеризується густою в'язкою консистенцією, кислотністю 95°Т, рН 4,45, концентрацією живих клітин -  $1,1 \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup>.

Для приготування живильного середовища 25 кг сухого знежиреного молока розчиняють в 100 л водопровідної води. До розчиненого молока доливають воду (до 150 л) із розрахунку одержання відновленого молока із вмістом сухих речовин 10 %. Одержану молочну основу змішують з рівною кількістю 4 %-ного гелю бентоніту. До суміші молока і гелю бентоніту додають 10 %-ну водну суспензію зародків пшениці у кількості 150 кг (30 %). Одержане живильне середовище стерилізують при температурі 121 °С протягом 35 хвилин. Потім охолоджують до температури 37 °С і вносять 5 % інокуляту. Процес культивування проводять 22 години при температурі 37 °С і рН 6,5. Концентрація життєдіяльних клітин в кінці культивування становить  $3,2 \times 10^{10}$  КУО/см<sup>3</sup>. Клітинну біомасу відокремлюють центрифугуванням. Характеристика одержаного пробіотика "Симбітер форте-М" наведена у табл. 5.

Приклад 2. Спосіб одержання пробіотика "Симбітер форте-М" у вигляді рідкого бактеріального концентрату для орального застосування.

Приготування інокуляту здійснюють згідно з прикладом 1, за винятком того, що як середовище культивування використовують стерильну водну суспензію зародків пшениці з вмістом сухих речовин 12 %. Для приготування живильного середовища 400 кг 12 %-ної водної суспензії зародків пшениці змішують з 600 кг 5 %-ного гелю бентоніту. Одержане живильне середовище стерилізують при температурі 121 °С з витримкою 40 хвилин. Охолоджують до температури 35 °С і вносять 6 % інокуляту. Процес культивування проводять протягом 20 годин при температурі 35 °С і рН 6,4. Концентрація життєдіяльних клітин наприкінці культивування становить  $3,4 \times 10^{10}$  КУО/см<sup>3</sup>. Клітинну біомасу відокремлюють центрифугуванням. Характеристика одержаного пробіотика "Симбітер форте-М" наведена у табл. 5.

Приклад 3. Одержання пробіотика "Симбітер форте-М" у вигляді рідкого бактеріального концентрату для орального застосування.

Спосіб здійснюють відповідно до прикладу 2, за винятком того, що при приготуванні живильного середовища використовують 45 % 10 %-ної суспензії зародків пшениці та 55 % 5 %-ного гелю бентоніту. Характеристика одержаного пробіотика "Симбітер форте-М" наведена в табл. 5.

Приклад 4. Одержання пробіотика "Симбітер форте-М" у формі ректального супозиторія.

Біомасу пробіотичних бактерій, одержану відповідно до прикладу 2 змішують із розплавленою жирною основою у співвідношенні 1:4, установлюють рН 6,0-6,5 і формують супозиторії вагою 1,5-1,7 г. Як жирну основу використовують масло какао, суміш масла какао з ланоліном або інші жирові основи, що використовуються для приготування ректальних супозиторіїв, і температура плавлення яких не перевищує 42-44 °С. Характеристика отриманого пробіотика "Симбітер форте-М" наведена у табл. 6.

Приклад 5. Одержання пробіотика "Симбітер форте-М" у формі вагінального супозиторія.

Спосіб здійснюють відповідно до прикладу 4, за винятком того, що в супозиторній суміші встановлюють рН 5,0-5,5 і формують супозиторії вагою 1,0-1,2 г. Характеристика одержаного пробіотика "Симбітер форте-М" наведена в табл. 6.

Приклад 6. Одержання пробіотика "Симбітер форте-М" у формі мазі.

5 Спосіб здійснюють відповідно до прикладу 4, за винятком того, що отриману біомасу змішують із будь-якою прийнятною мазевою основою у співвідношенні 1:5, устанавлюють рН 6,5-7,0. Характеристика одержаного пробіотика "Симбітер форте-М" наведена в табл. 6.

10 У таблиці 5 наведена порівняльна характеристика пробіотиків для орального застосування, одержаних відомим і пропонованим способами. Як видно з даних таблиці, запропонований спосіб, порівняно з відомим, дозволяє збільшити вихід біомаси та підвищити термін зберігання препарату.

15 У таблиці 6 наведена характеристика пробіотиків у формі супозиторіїв для ректального й інтравагінального застосування і мазі для зовнішнього застосування. Пробіотики характеризуються високою концентрацією життєдіяльних клітин фізіологічних бактерій та їхніх метаболітів, що доповнюють пробіотичний ефект (коротколанцюгові жирні кислоти, лізоцим, екзополісахариди).

Таким чином, запропонований спосіб дає змогу одержувати ефективні пробіотики для орального, ректального й вагінального застосування.

Таблиця 1

Порівняльна характеристика ростових показників культури пробіотичного симбіозу та його резистентності до жовчі і шлункового соку при використанні живильного середовища із застосуванням та без застосування гелю бентоніту

Показники	Середовище, приготовлене без застосування гелю бентоніту	Середовище, приготовлене із застосуванням гелю бентоніту
Тривалість lag-фази, год.	1,2±0,23	0,8±0,04
Концентрація клітин в кінці експоненціальної фази розвитку симбіотичної культури, КУО/см <sup>3</sup>	1,4±1,36×10 <sup>10</sup>	3,1±0,78×10 <sup>10</sup>
Збереження життєздатності експоненціальної культури в шлунковому соку (рН 2,0), % вижилих клітин після 2-годинної витримки	55,8±4,7	80,1±2,44
Збереження життєздатності експоненціальної культури у середовищі з 30 % жовчі, % вижилих клітин після 24-годинної витримки	60,7±3,9	83,9±3,76
Вихід біомаси, г/л	100±5,56	311±10,98
Концентрація життєдіяльних клітин у біомасі, КУО/см <sup>3</sup>	1,2×10 <sup>12</sup>	3,3×10 <sup>12</sup>

Таблиця 2

Вплив концентрації гелю бентоніту в живильному середовищі на розвиток клітин і активність пробіотичних бактерій (концентрація клітин після 24-годинного культивування, Іg КУО/см<sup>3</sup>)

Концентрація 4,0-4,5 %-го гелю бентоніту в живильному середовищі, %	Концентрація клітин симбіотичної культури, Іg КУО/см <sup>3</sup>	Вихід біомаси, г/л	Кількість клітин, що вижили в шлунковому соку, %	Кількість клітин, що вижили в середовищі з 30 % жовчі, %	Кількість клітин, що зберегли життєздатність після 6 місяців зберігання біомаси при температурі 4-6 °С, %
0	8,1±0,07	96,5	56,4	58,6	20,6
10	8,5±0,11	100,8	59,5	62,1	40,4
20	8,8±0,14	149,6	60,3	69,6	47,9
30	9,0±0,26	188,0	66,7	72,3	60,8
40	9,3±0,88	256,7	71,8	79,7	68,7
50	9,6±0,21	310,4	79,0	85,8	74,6
60	9,5±0,14	321,2	82,5	86,3	74,8
70	8,8±0,09	322,1	83,1	86,4	74,7

Таблиця 3

Вплив зародків пшениці на розвиток клітин симбіозу пробіотичних бактерій (концентрація клітин після 24-годинного культивування, Іg КУО/см<sup>3</sup>), синтез екзополісахаридів і коротколанцюжкових жирних кислот

Концентрація 10-12 %-ої суспензії зародків пшениці в середовищі, %	Концентрація клітин, Іg КУО/см <sup>3</sup>	Концентрація екзополісахаридів, %	Концентрація коротколанцюгових жирних кислот, %		
			молочна	оцтова	пропіонова
0	8,1±0,29	2,4±0,11	0,42±0,09	0,38±0,05	0,32±0,10
10	8,2±0,10	2,5±0,09	0,46±0,09	0,41±0,05	0,38±0,10
20	8,6±0,38	2,6±0,22	0,55±0,12	0,58±0,09	0,44±0,07
30	9,7±0,55	2,9±0,07	0,61±0,06	0,58±0,08	0,46±0,09
40	9,7±0,63	3,5±0,13	0,86±0,08	0,66±0,03	0,55±0,04
50	9,9±0,72	3,5±0,03	1,02±0,09	0,73±0,11	0,62±0,05
55	9,9±0,64	3,5±0,06	1,08±0,09	0,71±0,07	0,66±0,08
60	9,8±0,31	3,5±0,10	1,10±0,11	0,69±0,09	0,66±0,13
65	9,8±0,70	3,5±0,09	1,10±0,20	0,72±0,09	0,68±0,13



Таблиця 4

Розвиток клітин і синтез коротколанцюгових жирних кислот (КЛЖК) мультикомпонентним симбіозом пробіотичних бактерій у середовищі на основі суспензії зародків пшениці і гелю бентоніту

Показники	Співвідношення 4-5 %-го гелю бентоніту і 10-12 %-ої суспензії зародків пшениці, %: %			
	30:70	40:60	50:50	60:40
Концентрація клітин після 24 -годинного культивування в середовищі, lg КУО/см <sup>3</sup> :				
Lactobacillus	9,4±1,01	9,8±0,93	9,9±0,71	10,0±0,94
Lactococcus	8,5±0,73	8,9±0,57	9,6±0,82	9,5±0,29
Bifidobacterium	9,5±0,58	9,7±1,03	10,1±0,88	10,3±0,74
Propionibacterium	8,3±0,80	8,8±1,13	9,7±0,48	9,8±1,23
Streptococcus	8,1±0,96	9,1±0,60	9,0±0,53	9,5±0,55
Синтез КЛЖК, %:				
молочна кислота	1,08±0,09	1,21±0,07	1,22±0,10	1,25±0,04
оцтова кислота	0,71±0,07	0,80±0,05	0,81±0,09	0,81±0,05
пропіонова кислота	0,66±0,08	0,77±0,11	0,78±0,140	0,80±0,08
Синтез екзополісахаридів, %	2,9±0,07	3,5±0,06	3,5±0,03	3,5±0,09
Вихід біомаси, %	312,1±5,6	316,2±2,9	322,4±7,1	321,2±10,3

Таблиця 5

Порівняльна характеристика пробіотиків для орального застосування, які одержують відомим і пропонованим способами

Показники	Характеристика пробіотиків			
	За прототипом	За прикладом 1	За прикладом 2	За прикладом 3
Вихід біомаси, %	100±5,56	322,4±7,1	321,2±10,3	330,4±11,2
Кількість живих клітин пробіотичної мікрофлори, КОУ/см <sup>3</sup>				
Bifidobacterium	1,2×10 <sup>12</sup>	2,2×10 <sup>12</sup>	2,0×10 <sup>12</sup>	2,0×10 <sup>12</sup>
Lactobacillus	4,7×10 <sup>12</sup>	5,1×10 <sup>12</sup>	5,5×10 <sup>12</sup>	5,4×10 <sup>12</sup>
Propionibacterium	5,2×10 <sup>11</sup>	5,5×10 <sup>11</sup>	5,5×10 <sup>11</sup>	5,2×10 <sup>11</sup>
Lactococcus	3,2×10 <sup>12</sup>	3,7×10 <sup>12</sup>	3,5×10 <sup>12</sup>	3,8×10 <sup>12</sup>
Збереження життєздатності у шлунковому соку (рН 2,0), % вижилих клітин після 2-годинної витримки	71,4±6,3	82,0±4,8	82,0±4,8	82,7±6,6
Збереження життєздатності в середовищі з 30 % жовчі, %	72,6±4,8	83,9±5,7	83,9±5,7	84,3±4,9
Зниження концентрації холестерину в середовищі культивування, %	73,8±5,9	74,5±7,1	74,5±7,1	75,0±8,3
Ступінь адсорбції вірусних частинок, %	99,5±0,5	99,8±0,2	99,8±0,2	99,8±0,2
Концентрація КЛЖК, %:				
молочна	1,05±0,16	1,20±0,19	1,28±0,19	1,38±0,21
оцтова	0,78±0,10	0,81±0,17	0,81±0,17	0,80±0,19
пропіонова	0,67±0,11	0,76±0,10	0,76±0,10	0,74±0,08
Концентрація екзополісахаридів, %	3,3±0,27	3,6±0,25	3,7±0,38	3,6±0,21
Зниження концентрації клітин через 6 місяців зберігання пробіотика при температурі 4-6 °С, %:				
Bifidobacterium	43,3±4,7	20,6±1,9	21,4±2,2	21,9±1,7
Lactobacillus	45,2±2,3	22,2±4,1	20,8±5,6	24,1±4,0
Propionibacterium	59,0±10,1	23,7±3,9	21,7±4,2	25,8±3,9
Lactococcus	60,4±5,9	29,4±3,1	32,1±4,3	31,5±5,2

Таблиця 6

Характеристика пробіотиків у формі  
супозиторіїв для ректального і вагінального застосування та мазі

Показники	Характеристика пробіотиків		
	За прикладом 4	За прикладом 5	За прикладом 6
Концентрація клітин, КУО/г:			
Bifidobacterium	$3,3 \times 10^9$	$2,8 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$
Lactobacillus	$5,6 \times 10^8$	$6,2 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$
Propionibacterium	$1,5 \times 10^9$	$1,8 \times 10^9$	$7,1 \times 10^8$
Lactococcus	$2,7 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$
Зниження концентрації клітин через 6 місяців зберігання, %	20,8±2,0	21,2±3,5	20,3±2,8
Лізоцимсинтезуюча активність, зона лізису тест-культури, мм	8,0±0,7	8,3±0,5	8,1±0,4
Концентрація екзополісахаридів, %	3,0±0,21	2,9±0,25	2,7±0,31
Концентрація КЛЖК, %:			
молочна	0,83±0,16	0,85±0,27	0,86±0,22
оцтова	0,59±0,16	0,61±0,17	0,53±0,09
пропіонова	0,36±0,11	0,33±0,15	0,30±0,11

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

10

15

20

- Спосіб одержання пробіотика, що передбачає приготування живильного середовища, введення до його складу стимулятора росту цукролітичних бактерій, культивування клітин полівидового мультисимбіозу, який містить біфідобактерії видів *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, лактобацили видів *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. helveticus*, молочнокислі стрептококи видів *Lactococcus lactis* і *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, пропіоновокислі бактерії видів *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* і *P. acidipropionici*, відділення біомаси центрифугуванням і введення до складу препарату гелю бентоніту, який **відрізняється** тим, що гель бентоніту вводять до складу живильного середовища перед стерилізацією в кількості 50-60 % від його загального об'єму, при цьому гель бентоніту містить 4,0-4,5 % сухих речовин, а як додатковий стимулятор росту до складу середовища вводять зародки пшениці у вигляді 10-12 %-ної водної суспензії у кількості 30-50 % від загального об'єму середовища.
- Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що пробіотик виготовляють у формі ректальних або вагінальних супозиторіїв.
- Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що пробіотик виготовляють у вигляді мазі.

---

Комп'ютерна верстка Л. Купенко

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601